

炸油飲食降低血漿與肝臟維生素 A 含量

湯雅理 黃青真*

Dietary Oxidized Frying Oil Decreased Plasma and Liver Vitamin A in Rats

Ya-Li Tang and Ching-Jang Huang*

Laboratory of Nutritional Biochemistry, Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

(Accepted for publication September 14, 1998)

The purpose of this study is to investigate the effect of oxidized frying oil on the vitamin A status. Three groups of Long-Evans male weanling rats were respectively fed F50, D50 and D500 diets. The D50 and D500 diets contained 15%(w/w) of oxidized frying oil whereas the F50 control diet contained 15%(w/w) fresh soybean oil. The F50 and D50 diets had normal vitamin E level (50 mg/kg diet of α -tocopheryl acetate) while the D500 diet was supplemented with high level of vitamin E (500mg/kg diet). The vitamin A of all three diets was supplied by 4000 IU/kg diet of retinyl palmitate. After 14 weeks of feeding, the D50 and D500 groups of rats showed vitamin A status inferior to the F50 group. The liver total retinol concentration of the D50 and D500 groups was about half of those of the control (F50) group ($P < 0.05$). The plasma retinol concentration of the D50 and D500 groups was also significantly lower than that of the F50 group ($P < 0.05$). The results indicated that vitamin A status was aggravated by feeding an oxidized oil containing diet. As the D500 group was affected similarly to the D50 group, the effect can not be attributed indirectly to the deteriorated vitamin E status resulting from the ingestion of dietary oxidized oil.

Key words: oxidized frying oil, vitamin A, retinol

* To whom correspondence should be addressed.



前 言

維生素 A 為營養上所必需之脂溶性維生素。其於維持正常視覺、上皮組織的完整性、細胞正常分化、生長、發育、生殖功能上乃不可或缺。近年來更被認為與癌症的防治具有密切關聯^(1,2)。細胞核視網酸受器 (Nuclear Retinoic Acid Receptor, RAR; Nuclear Retinoid X receptor, RXR) 之發現及其功能性質之進一步研究，闡明了維生素 A 調節基因表現之可能機制^(3,4)，更肯定維生素 A 營養仍為現階段營養保健之重要課題。然而，維生素 A 攝取過量會造成中毒與畸胎^(5,6)，在補充風氣盛行之今日，也不能被忽視。

油脂為人類食物中不可缺少的一環。不含油脂的膳食不但可口性極差難以長期接受，在營養上也難以符合足夠的熱量和必需脂肪酸的需求，更難保脂溶性維生素之正常吸收利用。然油脂本身屬於較不安定的化合物，高溫、光線、以及烹調過程均可導致其品質之劣化。其中又以反覆使用於油炸之油脂在高溫狀況下劣化情形最為嚴重，這些劣變油脂往往被吸入油炸食物之中一併被食入體內。油脂劣變主要起自其脂肪酸發生氧化，產生過氧化物。此即其一級產物，油脂於常溫下之自氧化反應即以此為主要之初期產物。然其穩定性差，易繼續分解成各式各樣化合物，稱為次級產物，為一般自氧化後期之主要產物。由於烹調多於較高溫度下進行，而過氧化物於高溫下更不穩定，故烹調中發生劣變之油脂所含之一級產物量並不高，反以高溫下因裂解、聚合甚至環化產生之次級產物為主。一般以極性化合物、尿素不結合物等之含量多寡可反映其劣變程度⁽⁷⁾。高溫油炸使油脂產生劣變實為非常複雜之反應，根據估計，其中之氧化產物可能超過兩百種以上⁽⁸⁾。這些產物對人體健康之影響仍然沒有詳細的了解。

關於劣化油脂毒性問題的研究歷史可謂十分久遠，研究報告亦多⁽⁹⁻¹²⁾。其對動物體所造成的不良影響，雖然不同作者有不同描述，然大致歸納起來在正常營養狀況下劣變油脂常造成動物體的生長受阻、飼料效率降低、下痢及肝腎腫大等。劣化油脂具有類似 xenobiotics (脂溶性外來化學物質) 之性質，可誘發肝微粒體上之藥物及外來物代謝系統的活性：包括 Phase I 的含 cytochrome P-450 單氧酶及 phase II conjugation 酵素等⁽¹³⁾。由於此等酵素系統之誘發物往往亦為其反應之受質，推測劣變油脂中之次級氧化產物可藉此系統加以代謝。而內質網系統的增生可能即為肝臟變大之主要原因。這些結果說明了動物體可能有能力將劣變油脂中之油脂氧化產物加以代謝排除，而產生“解毒”之效果。

許多 xenobiotics 侵入體內時，會造成肝中維生素 A 儲存量遽減，例如：PCB (多氯聯苯)⁽¹⁴⁾、TCDD (戴奧辛)⁽¹⁵⁾、Phenobarbital 及 BHT⁽¹⁶⁾，尤以濫用藥物及酗酒者⁽¹⁷⁾ 最令人熟知。這些狀況之共同點在於都會引發肝微粒體藥物代謝酵素之活性，包括 cytochrome P-450 單氧酶。已有報告證實某些特定之 cytochrome P-450 同功酶 (2C7, 2C8 與 2B4) 可將視網醇或視網酸氧化成 4-hydroxy、4-oxo 或其他代謝產物⁽¹⁸⁻²⁰⁾。最近，更有學者發現一種新的 P450 異構酶，CYP26，其可被視網酸誘發而表現，且可將視網酸代謝成其氧化產物⁽²¹⁾。食入炸油同樣引發肝微粒體 cytochrome P-450，令人不免擔憂是否可能亦造成肝維生素 A 之耗減。加上劣化炸油也導致脂肪與維生素 E 吸收降低^(13,22)，則對脂溶性的維生素 A 之營養狀況是否亦造成干擾？

因此，本研究之主要目的乃在探討氧化炸油之攝入對維生素 A 營養狀況之影響。由於炸油餵食導致組織中維生素 E 含量顯著降低⁽²²⁾，並促進體內維生素 E 之轉換 (turnover) 及排除⁽²³⁾，顯示炸油攝食惡化體內維生素 E 營養狀況並干擾其正常代謝。早期研究指出，當維生素 E 缺乏時，肝中總維生素 A 含量（視網醇及視網醇酯）及血漿中視網醇均降低⁽²⁴⁻²⁶⁾。為釐清炸油餵食對維生素 A 營養狀況之影響是否間接來自維生素 E 之不足，本實驗乃另於炸油飲食中添加高劑量的維生素 E（D500，建議量的十倍），以排除維生素 E 營養狀況不佳之可能干擾。已知飲食中此等十倍劑量維生素 E 可使組織中維生素 E 含量與對照組相當⁽²²⁾。

材料與方法

炸油的製備與分析

參照以前之報告⁽¹³⁾，黃豆油（統一公司，3 公斤裝）於生鐵鍋中，以瓦斯爐直火加熱，油溫維持 $205 \pm 5^\circ\text{C}$ ，油炸麵片，每次一片。每日連續油炸 6 小時後，熄火冷卻。重覆四天。得到共經 24 小時油炸後之炸油樣品，貯於 -20°C 中作為實驗用炸油。將未經油炸的新鮮黃豆油（對照組），以及炸油樣品，進行酸值（依 A.O.C.S. official method Cd 3a-63 法測定）、UV 233 nm 吸光值⁽²⁷⁾、總極性物質含量⁽²⁸⁾，以及尿素不結合物之含量 (NUAF)⁽²⁷⁾ 測定，以了解各炸油樣品之劣化程度。同時也經甲基酯化後，以氣相層析法進行脂肪酸組成分析。

實驗飼料之製備

實驗飼料共分三種：F50、D50 及 D500。F50 為含 15% 新鮮黃豆油之對照組飼料，D50 與 D500 均為含 15% 炸油之試驗飼料。F50 與 D50 均含正常量 (50 mg/kg diet) 維生素 E (AIN-76)⁽²⁹⁾，而 D500 含十倍於正常量之維生素 E (500 mg/kg diet)。除油脂外，實驗飼料之成份尚包括：乳白蛋白 (lactalbumin, Sigma Co.)、玉米澱粉 (corn starch, Roquette, France)、纖維素 (Arbocel, type BE 600/300, J. Bettenmaier & Sohne, Germany)、礦物質預混物 (AIN-76)⁽²⁹⁾、維生素預混物 (AIN-76，但未加入 Vit E)⁽²⁹⁾、膽鹼 (choline HCl, Sigma Co.) 等。AIN-76 維生素預混物所含之視網醇棕櫚酸酯供為三種飼料之維生素 A 源，使三種飼料之維生素 A 含量均為 4,000 IU/kg diet 之視網醇棕櫚酸酯。將上述材料依照表一 的配方配製攪拌均勻，並貯於 -20°C 供餵飼老鼠。



表一 試驗飼料之組成

Table 1 Composition of test diets

Diet ingredients	F50	D50	
		g/kg diet	
Lactalbumin	200	200	200
Fresh soybean oil	150		
Oxidized frying oil ¹		150	150
Corn starch	572	572	572
Cellulose	30	30	30
Vitamin premix ²	10	10	10
Mineral mixture ³	3.5	3.5	3.5
all-rac- α -tocopheryl acetate	0.05	0.05	0.5
Choline	3	3	3

¹ Fresh soybean oil was used for frying dough sheet at $205 \pm 5^\circ\text{C}$ for 24 hr.

² Vit E free AIN-76 vitamin mixture (AIN, 1977)

³ AIN-76 mineral mixture (AIN, 1977)

動物飼養及犧牲取樣

離乳 Long-Evans 品系公鼠（購自國立台灣大學醫學院動物中心），平均體重 55 g。逢機分成三組，分別餵養 F50, D50 或 D500 等三種實驗飼料。老鼠個別飼養於不鏽鋼製網籠中。動物室溫度維持在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，光暗週期各為 12 小時。飼料、飲水均超量供應，令其自由攝取。每週記錄其體重變化以及飼料攝取量。

十四週飼養結束後，動物秤重，以 CO_2 使老鼠窒息。以含有肝素 (heparin) 之採血管自腹腔靜脈抽血。然後迅速取下肝臟稱重並立即均質。血液經離心分離得到血漿，貯於 -20°C 。

肝均質液及微粒體製備

將整個肝臟組織置入冰冷之 homogenate buffer (0.01 M potassium phosphate buffer, 含 1.15% KCl, pH 7.4) 中，剪碎後以組織均質機 (Potter-Elvehjem tissue homogenizer, Wheaton Co., Millvill, N.J., USA) 均質化。經紗布濾去結締組織後，以 homogenate buffer 配成 25% (W/V) 的均質液，並記錄其體積。將部分均質液於 $12000 \times g$, 4°C 下離心 20 min (Model 1900 centrifuge, RA-80, Kubota Co. Japan) 得到去粒腺體上清液 (post-mitochondria supernatant, PMS) 記錄體積後，分裝於離心管 (每管 5 mL)，進行超高速離心 ($105,000 \times g$, Beckman XL-90 ultracentrifuge, 50.4 Ti rotor) 一小時，得到微粒體沈澱 (microsome pellet)，加入含 1 mM EDTA 之 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 7.6) 1 mL，冰凍於 -70°C 。

維生素 A、E 分析

為計算回收率，於血漿樣品中加入已知量 retinyl acetate、 δ -tocopherol。取 0.5 mL 血漿，加入 2 mL 絕對酒精（含 1% pyrogallol）震盪均勻 10 秒後，以 6 mL n-hexane 萃取，震盪 3 分鐘，離心（1,000 xg, 15 min）分層。取定量上層，於真空中去除溶劑，再以 200 μ L 甲醇充分溶解。以下述之 HPLC 系統同時分析維生素 A、E。

取肝臟均質液 0.5 mL，加入 1 mL 絕對酒精（含 1% pyrogallol）震盪混合 10 秒後，加入 6 mL n-hexane 萃取，震盪 3 分鐘，離心（1,000 x g, 15 min）分層後，取定量上層，於真空去除溶劑，再以 200 μ L 甲醇充分溶解再利用下述 HPLC 系統分析。

使用之維生素 A 標準品包括：retinol (Art. 24769, Merck Co.), retinyl acetate (186-00881, WAKO Co.), retinyl palmitate (186-00891, WAKO Co.)，維生素 E 標準品包括三種異構物 α -、 γ -、 δ -tocopherol (Art. 15496, Merck Co.)。

HPLC 系統

儀器：Jasco 880-PU Intelligent HPLC pump

Jasco 870-UV Intelligent UV/Vis detector

Jasco 821-FP Intelligent spectrofluorometer

Jasco 851-AS Intelligent sampler

管柱：C18 (Reverse phase column) (4 × 125 mm, 5 μ m) (Art. 50734, Merck Co.)

Guard column (Merck Co.)

利用 UV 偵測器波長 340 nm 來偵測各維生素 A 的含量，利用螢光偵測器偵測各維生素 E 異構物含量，波長設定：Excitation, 286 nm, Emission, 330 nm.

移動相：使用 methanol (C2517, Lab-Scan Co.) 含有 8% H₂O.

流速：1.5 mL/min.

此條件下各化合物之滯留時間各為：retinol, 2.7 min; retinyl acetate, 4.6 min; δ -tocopherol, 11.4 min; γ -tocopherol, 14.8 min; α -tocopherol, 18.3 min。

肝微粒體 cytochrome P-450 含量及 NADPH-cytochrome c reductase 活性分析

採用 Omura and Sato (1964)⁽³⁰⁾ 之方法測定 cytochrome P-450 含量，將微粒體懸浮液以 Na₂S₂O₄ (sodium dithionite, Merck) 還原，測定 cytochrome P-450 與 CO 結合後之光譜差異。NADPH-cytochrome c reductase 活性，利用測定 reduced cytochrome c 的生成量來表示酵素的活性 (Phillips and Langdon, 1962)⁽³¹⁾。

統計分析

各組之實驗數據以平均值 ± 標準偏差 (Mean ± SD) 表示。以單向變方分析 (Oneway ANOVA) 及鄧肯氏多變域測驗 (Duncan's Multiple Range Test) 檢定三組老鼠間差異之顯著性，以 $P < 0.05$ 為顯著。



結 果

表二示出黃豆油經油炸後之品質變化。酸價由 0.22 增加至 2.05，UV 233 吸光值由 479 增加至 5024，總極性物質含量由 6.27 增加至 76.32%；尿素不結合物 (NUAF) 也由 1.35 增加至 16.56%。顯示油脂於油炸過程中，已發生相當程度之氧化劣變。表三顯示油脂在油炸過程中 linoleic acid (C18:2) 及 linolenic acid (C18:3) 含量均減少，分別為新鮮油的 87.6% 及 51.4%。雖然必需脂肪酸含量降低，但應不致造成脂肪酸缺乏的情形。

三組老鼠的體重增加、飼料攝取量及飼料效率表示於表四。二組炸油組老鼠體重增加量較對照組為低 ($P < 0.05$)。餵食炸油的兩組老鼠，其攝食量與飼料效率雖低於對照組，但三組間並無統計上之差異 ($P > 0.05$)。三組老鼠之肝臟重量分別為：15.07 ± 2.35 gm (F50)，16.01 ± 2.20 gm (D50) 與 16.44 ± 2.44 gm (D500)，三者間差異不顯著。然因餵食炸油鼠之終體重較輕，故其相對肝重較高，D50 與 D500 組分別為：4.18 ± 0.20% 與 4.20 ± 0.18%，二者間沒有顯著差異；而 F50 組之相對肝重則為 3.35 ± 0.18%，顯著低於 D50 與 D500 組 ($P < 0.05$)。

表二 新鮮黃豆油在油炸過程中之品質變化

Table 2 The change of the quality of soybean oil during frying process

Sample oil	Acid Value mg KOH/g oil	UV233 Abs./g oil	Total polar %	NUAF %
Fresh soybean oil	0.22	479	6.27	1.35
Oxidized Frying Oil (OFO) ¹	2.05	5024	76.32	16.56

¹ Fresh soybean oil was used for frying dough sheet at 205 ± 5 °C for 24 hr.

表三 新鮮油與炸油中主要脂肪酸之組成

Table 3 The fatty acid composition of OFO and fresh soybean oil

	fresh soybean oil %	OFO ¹ %	OFO/fresh soybean oil %
C16:0	10.9	15.1	138.5
C18:0	3.9	4.9	125.6
C18:1	22.2	26.3	118.5
C18:2	54.0	47.3	87.6
C18:3	7.2	3.7	51.4

¹ OFO: Fresh soybean oil was used for frying dough sheet at 205 ± 5 °C for 24 hr.

表四 餵食炸油十四週對老鼠體重增加量、飼料攝取量及飼料效率之影響
 Table 4 The body weight gain, food intake and feed efficiency of rats fed fresh oil (F) or OFO (D) diets with 50 (F50, D50) or 500 (D500) mg/kg α -TOAc for 14 weeks^{1,2,3}

Group	Final body weight gm	Body weight gain gm/week	Food intake gm/week	Feed efficiency B.W. gain/food intake
F50	448.8 ± 61.8 ^a	30.1 ± 4.05 ^a	108.7 ± 9.1 ^a	0.28 ± 0.02 ^a
D50	383.4 ± 51.6 ^b	25.5 ± 2.89 ^b	101.0 ± 9.9 ^a	0.25 ± 0.04 ^a
D500	390.3 ± 61.8 ^b	25.6 ± 3.01 ^b	100.1 ± 10.5 ^a	0.26 ± 0.02 ^a

¹ Each value represents mean ± SD for eight rats.

² Values not sharing the same superscript letters in the same vertical column are significantly different from one another by Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$).

³ α -TOAc: all-rac- α -tocopheryl acetate

血漿與肝中維生素 A 之含量，列於表五。肝臟樣品進行萃取以分析維生素 A 的過程中，有經過皂化步驟，將貯存型維生素 A（視網醇酯）水解，故 HPLC 分析得出之總視網醇量即為肝中維生素 A 含量。分析結果，炸油組 (D50 及 D500) 肝中總視網醇濃度 ($\mu\text{g/g}$ liver) 不及對照組 (F50) 的一半 ($P < 0.05$)。雖然炸油組鼠肝之相對重量較高，換算為肝總含量 ($\mu\text{g/liver}$) 及每百克體重之含量 ($\mu\text{g}/100$ g body weight) 為單位時，炸油組仍然只有對照組之 53 ~ 63% ($P < 0.05$)。而 D50 與 D500 組間並無差異 ($P > 0.05$)。血漿中視網醇的含量方面，炸油組也較低於對照組 ($P < 0.05$)，而 D50 與 D500 二組間亦無統計上差異。D50 與 D500 血漿中視網醇含量約為 F50 組的 85%。

肝及血漿中維生素 E 含量示於表六。無論肝或血漿中均以 α -tocopherol 比 γ -tocopherol 含量高出數倍。在血漿中，經過 14 週餵養後，D50 組無論 α -tocopherol 或 γ -tocopherol 均較 F50, D500 為低 ($P < 0.05$)。D50 組血漿 α -tocopherol 量只有其他兩組之 50%， γ -tocopherol 則為另兩組之 70%。無論 α -或 γ -tocopherol，於 F50、D500 兩組間並沒有差異。肝中維生素 E 含量，D50 組無論在 α -tocopherol 或 γ -tocopherol 均顯著低於 F50 組 ($P < 0.05$)。隨膳食中 all-rac- α -tocopheryl acetate 之添加，D500 組肝中 α -tocopherol 較其他兩組為高，但 γ -tocopherol 含量則與 D50 相當，仍顯著低於 F50 組。

表七表示炸油餵食對鼠肝微粒體中 cytochrome P-450 含量之影響。在以每 mg protein 表示時，三組間的排列為 D50 組大於 D500 組大於 F50 組，D50 組大約是 F50 組之 1.5 倍。且無論以每克肝組織、總肝組織重量或每 100 克體重表示之，均有相同的趨勢。表示炸油餵食增加了肝微粒體 cytochrome P-450 的含量。

NADPH cytochrome c reductase 活性列於表八。D50、D500 二組活性較 F50 組為高，雖然以每 mg 蛋白質為單位表示其活性時，三組之差異不顯著。當活性以每克肝組織、總肝臟重量及每 100 克體重表示時，D50 組及 D500 組均顯著高於 F50 組。如以每 100 克體重表示時其活性是 F50 的兩倍之多。此酵素之活性 D50 及

D500 組間均無顯著差異，顯示膳食維生素 E 的添加對肝微粒體 NADPH cytochrome c 還原酶之活性沒有影響。

表五 餵食炸油十四週對老鼠血漿及肝中維生素 A 含量之影響

Table 5 The levels of vitamin A in plasma and liver of rats fed fresh oil (F) or OFO (D) diets with 50 (F50 & D50) or 500 (D500) mg/kg α -TOAc for 14 weeks^{1,2,3}

Group	Plasma		Liver	
	Retinol ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Total retinol ⁴ ($\mu\text{g}/\text{g}$ liver)	Total retinol ⁴ ($\mu\text{g}/\text{liver}$)	Total retinol ⁴ ($\mu\text{g}/100\text{gm}$ B.W.)
F50	0.61 \pm 0.10 ^a	59.7 \pm 12.8 ^a	888 \pm 193 ^a	198 \pm 39 ^a
D50	0.52 \pm 0.07 ^b	25.7 \pm 11.3 ^b	411 \pm 102 ^b	106 \pm 18 ^b
D500	0.52 \pm 0.06 ^b	29.1 \pm 11.3 ^b	495 \pm 253 ^b	124 \pm 48 ^b

¹ Each value represents mean \pm SD for eight rats.

² Values not sharing the same superscript letters in the same vertical column are significantly different from one another by Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$).

³ α -TOAc: all-rac- α -tocopheryl acetate

⁴ Retinol plus retinyl ester.

表六 餵食炸油十四週對老鼠血漿及肝中維生素 E 含量之影響

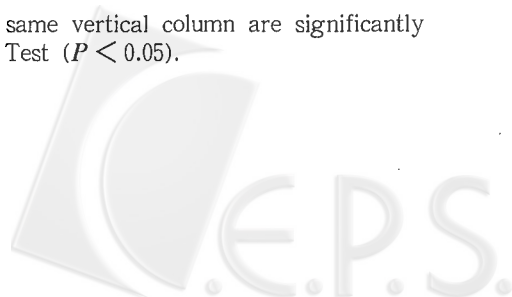
Table 6 The levels of vitamin E in plasma and liver of rats fed fresh oil (F) or OFO(D) diets with 50 (F50 & D50) or 500(D500) mg/kg α -TOAc for 14 weeks^{1,2,3}

Group	Plasma		Liver	
	α -Tocopherol ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	γ -Tocopherol ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	α -Tocopherol ($\mu\text{g}/\text{g}$ liver)	γ -Tocopherol ($\mu\text{g}/\text{g}$ liver)
F50	7.98 \pm 1.72 ^a	1.89 \pm 0.47 ^a	17.35 \pm 2.76 ^b	4.36 \pm 0.88 ^a
D50	3.48 \pm 0.42 ^b	1.34 \pm 0.26 ^b	6.85 \pm 0.79 ^c	2.65 \pm 0.45 ^b
D500	8.24 \pm 1.61 ^a	1.88 \pm 0.47 ^{ab}	20.52 \pm 3.01 ^a	2.92 \pm 0.61 ^b

¹ Each value represents mean \pm SD for eight rats.

² Values not sharing the same superscript letters in the same vertical column are significantly different from one another by Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$).

³ α -TOAc: all-rac- α -tocopheryl acetate.



表七 餵食炸油十四週對老鼠肝微粒體中 cytochrome P-450 含量之影響

Table 7 Liver microsomal cytochrome P-450 content in rats fed fresh oil (F) or OFO (D) diets with 50 (F50 & D50) or 500 (D500) mg/kg α -TOAc for 14 weeks^{1,2,3}

Group	Cytochrome P-450			
	nmol/mg protein	nmol/g Liver	nmol/liver	nmol/100 gm B.W. ⁴
F50	0.55 ± 0.21 ^b	11.40 ± 5.40 ^c	170.82 ± 78.68 ^b	38.27 ± 18.55 ^b
D50	0.86 ± 0.22 ^a	20.20 ± 3.95 ^a	322.38 ± 80.95 ^a	84.14 ± 16.83 ^a
D500	0.69 ± 0.18 ^{ab}	15.44 ± 4.32 ^b	263.23 ± 99.44 ^{ab}	66.30 ± 20.14 ^a

¹ Each value represents mean ± SD for eight rats.² Values not sharing the same superscript letters in the same vertical column are significantly different from one another by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).³ α -TOAc: all-rac- α -tocopheryl acetate⁴ B.W.= body weight

表八 餵食炸油十四週對老鼠肝微粒體中 NADPH-cytochrome c reductase 活性之影響

Table 8 Liver microsomal NADPH-cytochrome c reductase activity in rats fed fresh oil (F) or OFO (D) diets with 50 (F50 & D50) or 500 (D500) mg/kg α -TOAc for 14 weeks^{1,2,3}

	NADPH-cytochrome c reductase ⁴		
	F50	D50	D500
nmol/min/mg protein	229 ± 30.2 ^a	310 ± 103 ^a	264 ± 73 ^a
μ mol/min/g liver	2.51 ± 0.56 ^b	3.90 ± 0.51 ^a	3.68 ± 0.57 ^a
μ mol/min/total liver	36.9 ± 5.6 ^b	62.7 ± 14.8 ^a	61.7 ± 14.6 ^a
μ mol/min/100 gm B.W. ⁵	8.4 ± 1.8 ^b	16.3 ± 1.7 ^a	15.7 ± 2.8 ^a
nmol/min/nmol P-450 ⁶	368 ± 86 ^a	398 ± 141 ^a	365 ± 59 ^a

¹ Each value represents mean ± SD for eight rats.² Values not sharing the same superscript letters in the same horizontal row are significantly different from one another by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).³ α -TOAc: all-rac- α -tocopheryl acetate⁴ reduced cytochrome c formation⁵ B.W.= body weight⁶ P-450 = cytochrome P-450

討 論

油脂品質分析之結果，顯示本研究使用之油脂樣品與本研究室以前之系列報告使用者十分接近^(13,22,32)。雖然本實驗餵食時間長達 14 週，但老鼠餵食含 15% 炸油飼料之結果大致與以前之報告^(13,22)相同，炸油餵食使體重增加之狀況稍受抑制，但攝食量與飼料效率影響均不顯著。而肝之相對重量與肝微粒體 cytochrom P-450 含量顯著上升^(13,32)。顯示此等現象均為炸油引起之生物效應特徵。

經餵食含 15% 炸油飼料 14 週後，老鼠肝中維生素 A（視網醇）的濃度 ($\mu\text{g/g}$ liver) 約只及對照組的 43%。換算成總肝含量及每百克體重含量則約為對照組的 46% 及 54%。顯示攝食炸油確實明顯地降低了維生素 A 之貯存量。

飲食中維生素 A 之吸收、轉運、貯存及利用大致已被了解⁽³³⁾。其於體內之生化代謝途徑主要有三：其一是進行酯化作用貯存，其二則是被氧化為視網醛或視網酸，以供視覺功能或是進行基因調節作用。第三途徑是進行異化作用⁽³³⁾。

Leo 等人⁽³⁴⁾觀察 11 個因用藥而造成肝病變的病人，其肝組織檢體中維生素 A 含量降低約 10%。根據動物實驗結果，認為降低維生素 A 含量原因是間接來自加速其在微粒體中的代謝作用。於是他們接著餵予老鼠正常量 100 倍的維生素 A，2 ~ 3 週後，發現 cytochrome P-450f (CYP2C7) 增加；將純化之 cytochrome P-450b (CYP2B1)、cytochrome P-450f (CYP2C7) 重組成微粒體藥物代謝系統，可以將視網酸轉變成極性較大產物物質（包括 4-hydroxy-retinoic acid）⁽³⁵⁾。Leo 等人⁽³⁶⁾進一步證實，在酒精及藥物投予時會誘發肝微粒體中視網醇的代謝系統，而造成肝中維生素 A 的下降⁽³⁶⁾。人體⁽¹⁹⁾與兔子⁽²⁰⁾肝微粒體中 cytochrome P-450 異構酶亦可代謝視網醇及視網酸。Martini 和 Murray⁽³⁷⁾發現未作任何處理正常老鼠肝中，CYP3A 家族異構酶，對視網酸氫氧化作用亦扮演重要角色。老鼠注射 cytochrome P-450 抑制劑，如 imidazoles，結果造成血清中視網酸有堆積現象，因此更加突顯 cytochrome P-450 對維生素 A 的代謝作用的重要性⁽³⁸⁾。綜此，cytochrome P-450 單氧酶可催化 retinoid 第四個碳上的氫氧化反應，促進維生素 A 之異化作用。其中，CYP2B1、CYP2C7、1A1、3A2、3A subfamily 等異構酶被認為可催化此反應。新近發現之 CYP26 異構酶已被證實可被視網酸誘發表現，且具 all-trans-retinoic acid 4-hydroxylase 之活性，可能扮演調節細胞內維生素 A 濃度之角色^(21,39)。

據此，推測炸油影響維生素 A 營養狀況，可能原因包括：

1. 炸油餵食可能降低維生素 A 之吸收：由於餵食炸油會降低脂質外表吸收率^(13,22)，而維生素 A 的消化吸收需仰賴正常之脂質攝取與消化吸收。
2. 炸油餵食可能促進維生素 A 於肝中之異化作用：炸油餵食誘發了肝微粒體中的 cytochrome P-450 酵素系統。如前所述，cytochrome P-450 中好幾種異構酶已被證實具有催化維生素 A 異化作用^(18-21,34-39)，炸油餵食可能經由此一途徑加速維生素 A 的代謝，從而降低肝維生素 A 貯存量。
3. 攝入炸油促進體內脂質過氧化反應之進行，由於視網醇分子之支鏈帶有四個共軛雙鍵，易受氧化破壞。因此，脂質過氧化反應可能同時毀損視網醇分子。

本實驗結果，炸油餵食 14 週後亦使肝中 α -tocopherol 含量僅及對照組之約 40%，將膳食中維生素 E 含量增至十倍量，可以預防肝中維生素 E 含量因攝食炸油而降低，此均與以前之報告⁽²²⁾結果一致。本實驗中所用油脂並未脫除維生素 E，根據以前之報告⁽²²⁾，新鮮黃豆油中分別含 67、485.2 及 21 $\mu\text{g/g}$ oil 之 α -、 γ -及 δ -tocopherol。可估計對照組飼料約含 72.8 mg/kg 之 γ -tocopherol，高於 α -生育醇。因此本實驗所分析之鼠肝及鼠血漿中仍可偵測到相當量之 γ -tocopherol，但其含量比 α 型低，印證 γ 型之生物效力只有 α 型的 10-35%。而老鼠血漿及組織中 γ -tocopherol 含量亦受炸油餵食之影響而顯著降低，然降低幅度則沒有 α 型嚴重。炸油飼料中添加十倍劑量之 all-rac- α -tocopheryl acetate 由於是 α 型，故對肝及血漿中 γ -tocopherol 含量沒有影響。組織中 γ -tocopherol 受炸油餵食而降低之幅度不如 α -tocopherol 來得大。

炸油對維生素 E 營養之干擾主要係源自炸油攝食降低了維生素 E 的吸收，也加速了體內組織中維生素 E 的代謝轉換及排出，同時也推測炸油中油脂氧化產物進入體內後，促使體內脂質過氧化反應，加速抗氧化營養素維生素 E 之代謝及耗損^(22,23)。以前之報告指出，炸油飲食中含 10 倍於正常量維生素 E 可使肝臟中維生素 E 與 TBARS 值變成與對照組相當。本實驗中 D500 組老鼠肝中維生素 E 含量已與新鮮油相當。但在肝中維生素 A 含量方面，無論添加高量維生素 E 與否，肝臟中維生素 A 的含量均只有對照組的一半。似乎高量維生素 E 可防止之脂質過氧化但不能防止維生素 A 之耗減，則上述三個可能原因中之第三點可能性大為降低。

血漿中維生素 A 含量是保持恆定的，當肝中耗損嚴重時才會反應在血漿中⁽⁴¹⁾，餵予老鼠不含維生素 A 飼料時，當肝中維生素 A 降至 10 $\mu\text{g/g}$ tissue，血漿中仍可維持 30 $\mu\text{g/dl}$ 。但當肝中維生素 A 降至 3 $\mu\text{g/g}$ 時，血漿中的量才稍微下降。肝臟是維持血漿中維生素 A 濃度恆定的主要器官，當肝臟受損傷時會影響血中維生素 A 濃度，此為血漿中維生素 A 下降另一原因。本實驗中結果三組老鼠肝維生素 A 濃度均高於 10 $\mu\text{g/g}$ tissue，但炸油組血漿中 retinol 含量也有降低的情形，是否反應炸油餵食使肝受損？抑或是血漿中專責運輸維生素 A 之視網醇結合蛋白 (Retinol Binding Protein) 受炸油餵食影響，間接降低血漿中視網醇量？須待進一步研究方能明瞭。Mercier 氏等學者⁽⁴²⁾發現老鼠以 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (TCB) 處理後除肝維生素 A 顯著降低外，血漿、肺與睪丸維生素 A 亦均顯著降低，他們亦發現 TCB 會使肝中視網醇酯水解酶活性顯著降低，故認為肝貯存之視網醇酯水解減少是使血漿視網醇濃度降低並影響維生素 A 運輸至周圍組織之原因。酒精中毒之狀況下，肝中視網醇酯水解酶活性未有顯著降低，血漿視網醇濃度也沒有顯著改變，雖然肝中維生素 A 含量也顯著降低。

結 論

炸油餵食 14 週，肝中維生素 A 含量已明顯降低至對照組的 50% 以下，血漿中視網醇含量也僅為對照組的 85%。肝及血漿中之維生素 E 含量亦顯著降低，然可藉膳食中高量補充維生素 E 有效地加以防止。但膳食補充維生素 E 後仍然無法

防止肝中維生素 A 之降低。表示炸油造成肝中維生素 A 含量降低並非由於炸油餵食減少維生素 E 對維生素 A 保護所致。

致 謝

本研究承行政院衛生署研究經費 (DOH83-TD-061) 補助特此致謝。

參考文獻

1. Willett, W.C.: Vitamin A and lung cancer. *Nutr. Rev.* 48:201-211 (1990)
2. Hill, D.L. and Grubbs, C.J.: Retinoids and cancer prevention. *Ann. Rev. Nutr.* 12: 161-181 (1992)
3. Petkovich, M.: Regulation of gene expression by vitamin A: The role of nuclear retinoic acid receptors. *Ann. Rev. Nutr.* 12:443-471 (1992)
4. Pfahl, M. and Chytil, F.: Regulation of metabolism by retinoic acid and its nuclear receptors. *Ann. Rev. Nutr.* 16:257-283 (1996)
5. 劉珍芳、黃青真：維生素 A 中毒及肝微粒體酵素系統於維生素 A 代謝上所扮演之角色。中華營誌 16:139-154 (1991)
6. Soprano, D.R. and Soprano, K.J.: Retinoids as teratogens. *Ann. Rev. Nutr.* 15:111-132 (1995)
7. Fritsch, C.W.: Measurements of frying fat deterioration: A brief review. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58:272-274 (1981)
8. Nawar, W.W.: Lipids. In: *Food Chemistry*, Fennema, R., ed. pp.179. Marcel Dekker, Inc., New York (1985)
9. Artman, N.R.: The chemical and biological properties of heated and oxidized fats. *Adv. Lipid Res.* 7:245-330 (1969)
10. Nolen, G.A., Alexander, J.C. and Artman, N.R.: Long-term rat feeding study with used frying oil. *J. Nutr.* 93:337-348 (1967)
11. Poling, C.E., Eagle, E., Rice, E.E., Durand, A.M.A. and Fisher, M.: Long-term responses of rats to heat-treated dietary fats: IV. Weight gains, food and energy efficiencies, longevity and histopathology. *Lipids* 5:128-136 (1970)
12. Hemans, C., Kummerow, F. and Perkins, E.G.: Influence of protein and vitamin levels on the nutritional value of heated fats for rats. *J. Nutr.* 103:1665-1672 (1973)
13. Huang, C.J., Cheung, N.S. and Lu, V.R.: Effects of deteriorated frying oil and dietary protein levels on liver microsomal enzymes in rats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 65:1796-1803 (1988)
14. Azais, V., Arand, M., Rauch, P., Schramm, H., Bellenand, P., Narbonne, J., Oesch, F., Pascal, G. and Robertson, L.W.: A time-course investigation of vitamin A levels and drug metabolizing enzyme activities in rats following a single

- treatment with prototypic polychlorinated biphenyls and DDT. *Toxicology* 44:341-354 (1987)
15. Hakansson, H. and Ahlborg, U.G.: The effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) on the uptake, distribution and excretion of a single oral dose of [11,12-³H]retinyl acetate and on the vitamin A bstatus in the rat. *J. Nutr.* 115:759-771 (1985)
 16. Leo, M.A., Lowe, N. and Lieber, C.S.: Potentiation of ethanol-induced hepatic vitamin A depletion by phenobarbital and butylated hydroxytoluene. *J. Nutr.* 117: 70-76 (1987)
 17. Sato, M. and Lieber, C.S.: Hepatic vitamin A depletion after chronic ethanol consumption in baboons and rats. *J. Nutr.* 111:2015-2023 (1981)
 18. Leo, M.A. and Lieber, C.S.: New pathway for retinol metabolism in liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 260:5228-5231 (1985)
 19. Leo, M.A., Lasker, J.M., Raucy, J.L., Kim, C.I., Black, M. and Lieber, C.S.: Metabolism of retinol and retinoic acid by human liver cytochrome P-450IIC8. *Arch. Biochem. Biophys.* 269:305-312 (1989)
 20. Roberts, E.S., Vaz, A.D.N. and Coon, M.J.: Role of isozymes of rabbit microsomal cytochrome P-450 in the metabolism of retinoic acid, retinol, and retinal. *Mol. Pharmacol.* 41:427-433 (1991)
 21. Ray, W.J., Bain, G., Yao, M. and Gottlieb, D.I.: CYP26, a novel mammalian cytochrome P450, is induced by retinoic acid and defines a new family. *J. Biol. Chem.* 272:18702-18708 (1997)
 22. Liu, J.F. and Huang, C.J.: Tissue alpha-tocopherol retention in male rats is compromised by feeding diets containing oxidized frying oil. *J. Nutr.* 125:3072-3081 (1995)
 23. Liu, J.F. and Huang, C.J.: Dietary oxidized frying oil enhances tissue alpha-tocopherol depletion and radioisotope tracer excretion in vitamin E-deficient rats. *J. Nutr.* 126:2227-2235 (1996)
 24. Moore, T.: The effect of vitamin E deficiency on the vitamin A reserves of the rat. *Biochem. J.* 34:1321-1328 (1940)
 25. Davies, A.W. and Moore, T.: Interacton of vitamins A and E. *Nature.* 147:794-796 (1941)
 26. Robinson, W. G., Jr, Kuwabara, T. and Bieri, J. G.: Vitamin E deficiency and the retina: photoreceptor and pigment epithelial changes. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 18:683-690 (1979)
 27. 顏裕鴻, 孫璐西: 油炸油品質測定法及其滲入食用油之檢驗。台灣大學農學院研究報告 23:67-77 (1983)
 28. 郝龍斌, 楊博光, 孫璐西: 油脂加熱及油炸過程中品質之測定。中農化會誌 24:397-405 (1986)
 29. American Institute of Nutrition: Report of American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 107:1340-1344 (1977)

30. Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsome. *J. Biol. Chem.* 239:2370-2385 (1963)
31. Phillips, A. H. and Langdon, R. G.: Hepatic triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase: isolation, characterization and kinetic studies. *J. Biol. Chem.* 237:2652-2660 (1962)
32. 劉麗雲, 黃青真: 不同油炸程度炸油對老鼠肝微粒體 cytochrome P-450 相關酵素活性之影響。中農化會誌 27:64-74 (1989)
33. Blomhoff, R., Green, M.H. and Norum, K.R.: Vitamin A: physiological and biochemical processing. *Annu. Rev. Nutr.* 12:37-57 (1992)
34. Leo, M.A., Lowe, N. and Lieber, C.S.: Decreased hepatic vitamin A after drug administration in men and in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 40:1131-1136 (1984)
35. Leo, M.A., Ijda, S. and Lieber, C.S.: Retinoic acid metabolism by a system reconstituted with cytochrome P-450. *Arch. Biochem. Biophys.*, 234:305-312 (1984)
36. Leo, M.A. Lowe, N. and Lieber, C.S.: Interaction of drugs and retinol. *Biochem. Pharmacol.* 35:3949-3953 (1986)
37. Martini, R. and Murray, M.: Participation of P450 3A enzymes in rat hepatic microsomal retinoic acid 4-hydroxylation. *Arch. Biochem. Biophys.* 303:57-66 (1993)
38. Van Wauwe, J.P., Coene, M.C., Goossens, J., Cools, W. and Monbaliu, J.: Effects of cytochrome P-450 inhibitors on the in vivo metabolism of all-trans-retinoic acid in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 252:365-369 (1989)
39. Fujii, H., Sato, T., Kaneko, S., Gotoh, O., Fujii-Kuriyama, Y., Osawa, K., Kato, S. and Hamada, H.: Metabolic inactivation of retinoic acid by a novel P450 differentially expressed in developing mouse embryos. *EMBO J.* 16:4163-4173 (1997)
40. Frolik, C.A.: Metabolism of retinoids, in *The Retinoids* (Sporn, M.B., Roberts, A.B., and Goodman, D.W., eds.) 2, 177-208. Academic Press, Orlando, FL (1984)
41. Underwood, B.A., Loerch, J.D. and Lewis, K.C.: Effects of dietary vitamin A deficiency, retinoic acid and protein quantity and quality on serially obtained plasma and liver levels of vitamin A in rats. *J. Nutr.* 109:796-806 (1979)
42. Mercier, M., Pascal, G. and Azais-Braesco, V.: Retinyl ester hydrolase and vitamin A status in rats treated with 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl. *Biochim. Biophys. Acta* 1047:70-76 (1990)



炸油飲食降低血漿與肝臟維生素 A 含量

湯雅理 黃青真

國立臺灣大學農業化學系

摘 要

本研究以老鼠為實驗模式，探討飲食攝入氧化炸油對維生素 A 營養狀況之影響。離乳之 Long-Evans 雄鼠隨機分成三組：D50 及 D500 組餵食含 15% 炸油之飼料，F50 組餵食含 15% 新鮮油之飼料為對照組。D50 及 F50 組之飼料中含 50 mg/kg diet 之 all-rac- α -tocopheryl acetate，D500 則含 500 mg/kg。三種飼料之維生素 A 均由 4,000 IU/kg diet 之視網醇棕櫚酸酯供應。飼養 14 週後，D50 與 D500 組老鼠肝中總視網醇量約只及 F50 組之半 ($P < 0.05$)；D50 組與 D500 組間沒有顯著差別。D50 與 D500 組之血漿視網醇值均顯著低於 F50 組 ($P < 0.05$)。顯示攝食含 15% 炸油之飲食，顯著降低了血漿與肝中視網醇含量，劣化了維生素 A 營養狀況。由於 D500 組血漿與肝中 α -生育醇量均與 F50 組相當或顯著較高，可知膳食中炸油干擾維生素 A 營養狀況並非間接來自於其對維生素 E 狀況之劣化效應。

關鍵字：氧化炸油、維生素 A、視網醇

